

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
7. März 2002 (07.03.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 02/18931 A2

- (51) Internationale Patentklassifikation⁷: **G01N 33/00**
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/10067
- (22) Internationales Anmeldedatum:
31. August 2001 (31.08.2001)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:
100 43 161.5 1. September 2000 (01.09.2000) DE
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **CONNEX GESELLSCHAFT ZUR OPTIMIERUNG VON FORSCHUNG UND ENTWICKLUNG MBH** [DE/DE]; Am Klopferspitz 19, 82152 Martinsried (DE).
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **LAKNER, Meret** [DE/DE]; Willibaldstr. 34, 80689 München (DE). **TRÜE,**
- Andreas [DE/ZA]; 28th Avenue, 872 Riet Fontain, 0084 Pretoria (ZA). **DEHNERT, Sonja** [DE/DE]; Bad Gasteiner Str. 10, 81373 München (DE). **REITER, Christian** [DE/DE]; Rathausstr. 8, 85757 Karlsfeld (DE).
- (74) Anwalt: **GRÜNECKER KINKELDEY STOCKMAIR & SCHWANHÄUSSER**; Maximilianstrasse 58, 80538 München (DE).
- (81) Bestimmungsstaaten (national): CA, JP, US.
- (84) Bestimmungsstaaten (regional): europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).
- Veröffentlicht:**
— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts
- Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: SOLUTION FOR PREPARING STOOL SPECIMENS FOR DIAGNOSTIC PURPOSES

(54) Bezeichnung: LÖSUNG ZUR AUFBEREITUNG VON STUHLPROBEN FÜR DIAGNOSTISCHE ZWECKE

(57) Abstract: The invention relates to a novel solution for preparing stool specimens for diagnostic tests. Said solution enables a simple preparation of the specimens to be carried out before said specimens undergo an immunological detection process, and increases the sensitivity, specificity and reproducibility of the test. The solution imperatively contains a buffer substance, a detergent and a blocking reagent. The invention further relates to a method for analysing a stool specimen for diagnostic purposes, using the inventive solution.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft eine neue Lösung zur Aufbereitung von Stuhlproben für diagnostische Tests. Die Lösung erlaubt eine einfache Probenaufbereitung vor deren Einsatz in einem immunologischen Nachweisverfahren und führt gleichzeitig zu hoher Sensivität, Spezifität und Reproduzierbarkeit des Tests. Dabei enthält die Lösung zwingend mindestens eine Puffersubstanz, ein Detergenz und ein Blockierungsreagenz. Die Erfindung betrifft ferner ein Verfahren zur Analyse einer Stuhlprobe für diagnostische Zwecke unter Verwendung der erfindungsgemässen Lösung.

WO 02/18931 A2

Lösung zur Aufbereitung von Stuhlproben für diagnostische Zwecke

Die vorliegende Erfindung betrifft eine Lösung zur Aufbereitung von Stuhlproben für diagnostische Tests und ein Verfahren zur Analyse einer Stuhlprobe für diagnostische Zwecke.

Stuhlproben werden im Rahmen der Diagnostik routinemäßig auf die Anwesenheit von Bakterien, Viren, Parasiten und andere Organismen getestet. Mit immunologischen Tests können beispielsweise Antigene der entsprechenden Organismen nachgewiesen werden. Derartige diagnostischen Nachweisverfahren umfassen hierbei die Stuhlprobennahme, gewöhnlich einige Schritte zur Aufbereitung der Stuhlprobe sowie das eigentliche immunologische Testverfahren, bei dem die An- oder Abwesenheit des zu detektierenden Agens, z.B. ein Antigen, anhand einer Reaktion, beispielsweise einer Farbreaktion, nachgewiesen wird.

Im Gegensatz zu invasiven Techniken wie beispielsweise Endoskopie und Biopsie, die für den Organismus in den meisten Fällen belastend und häufig auch mit hohem apparativen Aufwand sowie einem gesundheitlichen Risiko verbunden sind, stellen nicht-invasive Techniken, wie die Stuhlprobennahme und anschließende Analyse, einfache Möglichkeiten bereit, Organismen, die den Verdauungstrakt besiedeln, nachzuweisen.

Die Anwendung von immunologischen Testverfahren zur Analyse von Stuhlproben gestaltet sich jedoch aus mehreren Gründen schwierig: Der Umgang mit Stuhlproben ist unangenehm, die Aufbereitung der Stuhlproben aufwendig, komplex und zeitraubend. Um die Stuhlproben in einem immunologischen Testverfahren einsetzen zu können, müssen diese zuvor von für die Testverfahren störenden Verunreinigungen befreit werden. Üblicherweise umfaßt die Aufbereitung von Stuhlproben daher mehrere Schritte wie beispielsweise Verdünnung, Zentrifugation oder Filtration.

In der US 5,198,365 wird beispielsweise eine Methode zur Stuhlaufbereitung durch Probenverdünnung um den Faktor 10 bis 100 beschrieben. Eine derartige Probenverdünnung wirkt sich jedoch nachteilig auf die Sensitivität des Tests und die Inkubationszeiten bei der Testdurchführung aus. Von Vellacott et al. (Lancet 32 (1): 249 (1981)) wird ein immunologischer Test zur Detektion von okkultem Blut im Stuhl beschrieben, in dem ein Zentrifuga-

tionsschritt zur Probenaufbereitung nötig ist. Hasan et al. (J. Clin. Micro. 32,: 249 (1994)) beschreibt einen immunodiagnostischen Test zur Detektion von *Vibrio cholera* in klinischen Proben. In diesem Verfahren muß die Probe vorab über einen separaten Filter aufgereinigt werden.

Entsprechend sind im Stand der Technik Verfahren zur Diagnose z.B. von *Entamoeba histolytica* (Haque (1993), J. Infect. Dis. 167: 247-9), enterohämorrhagische *Escherichia coli* (EHEC; Park (1996), J. Clin. Microbiol. 34: 988-990), Torovirus-ähnliche Partikel (Koopmans (1993), J. Clin. Microbiol. 31: 2738-2744) oder *Taenia saginata* (Machnicka (1996), Appl. Parasitol. 37: 106-110) aus Stuhl beschrieben.

Diesen Verfahren ist gemeinsam, daß ein oder mehrere separate Verfahrensschritte zur Probenaufbereitung dem eigentlichen Test vorgeschaltet sind. Die Probenaufbereitung erfolgt in der Regel durch Suspension der Stuhlprobe in einem geeigneten Suspensionspuffer. Die Zusammensetzung dieses Puffers hat großen Einfluß auf die Sensitivität und Spezifität des Tests. Als besonders problematisch erweist sich häufig der Ausschluß der Detektion von falsch-positiven Proben. Die Detektion von falsch-positiven Proben hängt wesentlich von der Zusammensetzung der Probenpufferbestandteile ab. Zudem beeinflusst der Proteingehalt der Probe die Viskosität der Probensuspension und wirkt sich somit auf das Fließverhalten der Probensuspension aus.

Die Probenaufbereitung sollte auf folgende Gesichtspunkte hin optimiert sein: hohe Reproduzierbarkeit, hohe Sensitivität und hohe Spezifität sowie eine geringe Viskosität.

Der vorliegenden Erfindung lag das technische Problem zugrunde, eine Lösung anzugeben, die eine möglichst einfache Probenvorbereitung erlaubt und dennoch eine möglichst hohe Reproduzierbarkeit, Sensitivität und Spezifität des Nachweises ermöglicht.

Ein weiteres technisches Problem bestand darin, ein möglichst einfaches Verfahren zur Analyse von Stuhlproben für diagnostische Zwecke anzugeben. Das Verfahren sollte eine möglichst einfache Probenhandhabung bei gleichzeitig hoher Sensitivität, Spezifität und Reproduzierbarkeit der erhaltenen Ergebnisse gewährleisten.

Das erste Problem wird erfindungsgemäß gelöst durch eine Lösung zur Aufbereitung einer Stuhlprobe für diagnostische Zwecke, enthaltend mindestens eine Puffersubstanz, mindestens ein Detergenz und mindestens ein Blockierungsreagenz.

Das zweite Problem wird erfindungsgemäß gelöst durch ein Verfahren zur Analyse einer Stuhlprobe für diagnostische Zwecke, umfassend die Schritte:

- (a) Inkontaktbringen der Probe mit einer Lösung gemäß der Erfindung;
- (b) Durchführen eines Immunoassays mit der nach Schritt (a) behandelten Probe und
- (c) Abnehmen eines Meßsignals, das im Rahmen des Immunoassays erhalten wurde.

Die erfindungsgemäße Lösung eignet sich insbesondere zur Aufbereitung von Stuhlproben, in denen die Diagnose von einer *Helicobacter pylori* Infektion durchgeführt werden soll. Grundsätzlich ermöglicht die Probenaufbereitung mit Hilfe der erfindungsgemäßen Lösung jedoch den Nachweis beliebiger Erreger des Verdauungstraktes.

Bei einer besonders bevorzugten Ausführungsform wird die Puffersubstanz ausgewählt aus PBS, TBS, Glycinpuffer (0,1 M Glycin, 140 mM NaCl), HEPES ([4-(2-Hydroxyethyl)-piperazino]-ethansulfonsäure), MOPS (3-Morpholino-1-propansulfonsäure), wobei PBS besonders bevorzugt ist.

Bei einer weiteren bevorzugten Ausgestaltung liegt der pH der Lösung in einem Bereich von 7,0 bis 8,0, vorzugsweise 7,2 bis 7,7, wobei optimale Ergebnisse bei dem Nachweis von *H. pylori* bei einem pH von 7,3 bis 7,5 erhalten werden.

Bei einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist das Detergenz ein zwitterionisches Detergenz, das vorzugsweise ausgewählt wird aus Chaps (3-[(3-Chloramidopropyl)-dimethylammonium]-1-propansulfonat) und Zwittergent® (N-Dodecyl-N,N-Dimethyl-3-ammonio-1-propansulfonat), wobei Chaps ganz besonders bevorzugt ist.

Für den Aufschluß des Probenmaterials sind Detergenzien unabdingbar. Diese legen im Falle eines immunologischen Nachweises antigene Strukturen (Epitope) frei, um so eine Bindung der eingesetzten Antikörper an das nachzuweisende Antigen zu ermöglichen. Üblicherweise werden nicht-ionische Detergenzien wie Triton®, Tween® usw. verwendet. Es hat sich im Rahmen der vorliegenden Erfindung jedoch überraschenderweise gezeigt, dass die Verwendung eines zwitterionischen Detergenzes wesentliche Vorteile hat gegenüber der Verwendung nicht-ionischer Detergenzien, indem unter anderem die Detek-

tion falsch-positiver Proben bei Verwendung des zwitterionischen Detergenzes erheblich vermindert wird. Das bevorzugte Detergenz, Chaps, bietet gegenüber weiteren Detergenzien, wie beispielsweise Triton® oder Tween®, weitere Vorteile: Chaps weist gegenüber diesen Detergenzien weniger denaturierende Eigenschaften auf (Hjelmeland; US 4,372,888). Die Oberflächenproteine bleiben somit beim Aufschluß (bei der Probenaufbereitung) im Wesentlichen als intakte Komplexe in der Membran erhalten. Die Oberflächenproteine werden in geringerem Maße fragmentiert und denaturiert. Die Wahrscheinlichkeit, beim Aufschluß antigene Epitope zu erhalten, die für einen immunologischen Nachweis ausreichend sind, wird daher erhöht. Speziell bei dem immunologischen Nachweis in Probenmaterial, das den Verdauungstrakt passiert hat, kann durch die enzymatische Degradation des Antigens bereits ein hoher Grad an Fragmentierung des Probenmaterials vorliegen. Der möglichst effiziente Erhalt der verbliebenen Restepitope ist daher äußerst wünschenswert.

Bei einer weiteren bevorzugten Ausführungsform liegt das Detergenz in einer Konzentration von 0,01 bis 1,5% (v/v), vorzugsweise in einer Konzentration von 0,05 bis 0,3% (v/v) und ganz besonders bevorzugt in einer Konzentration von 0,1 bis 0,15% (v/v) vor.

Das in der erfindungsgemäßen Lösung enthaltene Blockierungsreagenz kann ein tierisches Serum oder ein Proteingemisch sein. In einer bevorzugten Ausführungsform enthält die erfindungsgemäße Lösung ein Blockierungsreagenz, das ausgewählt wird aus Mäuseserum, Rinderserum, Humanserum, Kaninchenserum, Schweineserum, fötales Kälberserum, BSA, Magermilchpulver und Pepton, wobei Mäuseserum besonders bevorzugt ist. Mäuseserum ist insbesondere dann vorzuziehen, wenn ein Immunoassay durchgeführt wird, bei dem Mäuseantikörper zum Nachweis eines Antigens eingesetzt werden. Die Verwendung von Serum gleicher Spezies wie die zur Detektion verwendeten Antikörper (z.B. Mäuseserum in Kombination mit Maus-Antikörpern) hat sich als besonders vorteilhaft zum Blockieren von unspezifischen Bindungen erwiesen, da die potentiellen unspezifischen Bindungen durch Serum der gleichen Spezies nahezu vollständig abgesättigt/blockiert werden können. Die höhere Absättigung der unspezifischen Bindungen steigert wiederum die Sensitivität/Spezifität des Nachweises.

Bei einer weiteren bevorzugten Ausführungsform liegt das Blockierungsreagenz in einer Konzentration von 0,05 bis 5%, vorzugsweise in einem Bereich von 0,1 bis 1%, ganz besonders bevorzugt in einem Bereich von 0,4 bis 0,6% in der erfindungsgemäßen Lösung

vor. Die prozentualen Konzentrationsangaben sind als "% (v/v)" für flüssige Blockierungsreagenzien wie etwa Mäuseserum, Rinderserum, Humanserum, Kaninchenserum, Schweineserum und fötales Kälberserum, und als "% (w/v)" für feste Blockierungsreagenzien wie etwa BSA, Magermilchpulver und Pepton zu verstehen.

Herkömmliche Lösungen zur Probenaufbereitung weisen oft einen sehr hohen Gehalt an Serum auf. Oft werden Konzentrationen von bis zu 50% Serum eingesetzt. Der hohe Serumgehalt bewirkt jedoch eine hohe Viskosität der aufbereiteten Probe und erschwert dadurch ihre Handhabung. Dieses Problem tritt bei Verwendung der Lösung gemäß der Erfindung nicht auf: Enthält die erfindungsgemäße Lösung Serum als Blockierungsreagenz, so ist der Gehalt an Serum in der Lösung niedriger als bei den herkömmlichen Lösungen zur Probenaufbereitung. Dadurch wird die Viskosität der aufbereiteten Probe geringer, was besonders vorteilhaft bei der Handhabung in der Probenvorbereitung ist. Das Fließverhalten wird deutlich verbessert, wodurch sich der Probenpuffer besonders zum Einsatz in ELISA oder immunchromatographischen Tests (Teststreifen) eignet. Speziell bei Anwendungen auf einem Teststreifen führt eine niedrige Viskosität zu einem verbesserten Laufverhalten und ermöglicht einen höheren Durchsatz an Probe pro Zeiteinheit. Durch die Verwendung von Serum der gleichen Spezies wie die Detektionsantikörper, beispielsweise Mäuseserum in Kombination mit Maus-Antikörpern, kann zudem der Gehalt an Serum im Konjugatpuffer verringert werden.

Bei einer weiteren bevorzugten Ausführungsform enthält die Lösung weitere Additive wie Probenstabilisierungsmittel. Diese Mittel dienen im Wesentlichen dazu, dass die Probe auch nach längerer Lagerung noch für die Durchführung der immunologischen Nachweisreaktionen geeignet ist und keine verfälschten Ergebnisse liefert. Zu diesen Stabilisierungsmitteln zählen unter anderem Phenol und Antibiotika, wie beispielsweise Gentamicinsulfat und Proclin® 300.

Die erfindungsgemäße Lösung ist weiterhin besonders vorteilhaft, da sie als Basispuffer sowohl für das Konjugat (markierter Detektionsantikörper) als auch für die Positiv- und Negativkontrolle verwendet werden kann, wodurch eine deutliche Vereinfachung des Testverfahrens ermöglicht wird.

Bei einer weiteren bevorzugten Ausführungsform enthält die Lösung zusätzlich einen Komplexbildner für Metallionen, vorzugsweise EDTA oder EGTA. Besonders bevorzugt ist

EDTA. Vorzugsweise liegt der Komplexbildner in einer Konzentration von 1 mM in der Lösung vor.

Die erfindungsgemäße Lösung wird vorzugsweise im Rahmen eines Testkits eingesetzt, wobei der Testkit sämtliche Reagenzien zur Durchführung des Immunoassays enthält. Hierzu zählen beispielsweise Teststreifen oder Platten mit Vertiefungen (z.B. Mikrotiterplatten), in denen die Reaktionen ablaufen, sowie die verschiedenen Nachweisreagenzien einschließlich der verwendeten Antikörper und gegebenenfalls Substrate für den Nachweis mittels ELISA. Vorzugsweise befinden sich sämtliche Reagenzien innerhalb einer Packungseinheit mit separaten Unterfächern.

Bei dem erfindungsgemäßen Verfahren zur Analyse einer Stuhlprobe für diagnostische Zwecke wird die Probe mit der erfindungsgemäßen Lösung in Kontakt gebracht. Dabei wird die Probe in der Regel in der erfindungsgemäßen Lösung suspendiert. Nach möglichst homogener Verteilung der Probe in der Lösung wird diese einem Immunoassay unterzogen und nach erfolgtem Immunoassay wird das erzeugte Meßsignal abgenommen. Vor dem Immunoassay können die partikulären Probenbestandteile durch Zentrifugation oder Filtration entfernt werden.

Bei einer bevorzugten Ausführungsform wird der Immunoassay als ELISA durchgeführt. Dabei wird die suspendierte Probe in ein Behältnis eingebracht, welches die Antigen-spezifischen Reagenzien enthält. Vorzugsweise wird im Rahmen dieses ELISA ein Sandwich-Komplex aus nachzuweisendem Antigen und Antigen-spezifischen Antikörpern aufgebaut. Bei einer alternativen Ausführungsform wird die suspendierte Probe auf einen Filterstreifen aufgebracht, der die entsprechenden Nachweisreagenzien bereits an vorab bestimmten Zonen enthält. Das Durchführen des Immunoassays auf einem Filter hat den Vorteil, dass unerwünschte partikuläre Probenbestandteile von dem Antigen von Interesse vor dessen Nachweis abgetrennt werden. Zur besseren Abtrennung kann zusätzlich ein Filter vorgeschaltet werden.

Die folgenden Beispiele erläutern die Erfindung.

Beispiele

Vergleich verschiedener Lösungen zur Probenaufbereitung in einem Einschnitt-ELISA

Für den Test standen Stuhlproben von Patienten aus zehn verschiedenen Kliniken oder gastroenterologischen Praxen zur Verfügung, die als *H. pylori* negativ (G0) oder *H. pylori* positiv (G4) mittels ^{13}C -Urea-Atemtest und/oder histologischer Untersuchungen von Magenbiopsien diagnostiziert worden waren.

H. pylori-Stuhl-Sandwich-ELISA (Einschritt-Test)

Die Beschichtung der ELISA-Platte (MaxiSorb Lock well; Nunc) erfolgte über Nacht bei 2-8°C mit 100 µl einer mAK-Lösung (2,0 µg HP25,2m/2H10 (Connex, Martinsried) pro ml Carbonatpuffer, 0,1 M, pH 9,5). Die so beschichteten ELISA-Platten wurden 2x mit PBS gewaschen. Zum Blockieren der freien Bindungsstellen wurden 200 µl Blockierungspuffer (0,3% (w/v) BSA; 20% (w/v) Sorbitol in PBS) je Vertiefung zugegeben und bei 2-8°C über Nacht inkubiert. Die abgesättigten Platten wurden abgesaugt, über Nacht bei 28°C im Umluft-Trockenschrank getrocknet und anschließend bei 2-8°C gelagert.

Patientenstuhl wurde 1:5 (0,1 g Stuhlprobe + 500 µl Probenpuffer) in erfindungsgemäßer Lösung (75 mM PBS + 0,5% Mäuseserum + 1 mM EDTA + 0,05% Proclin® 300 + 50 µg/ml Gentamicinsulfat + 10 mM Phenol + 0,1% (v/v) Chaps) ca. 30 sec suspendiert (Vortex) und anschließend 5 min bei 5000 g abzentrifugiert. Pro Vertiefung wurden 50 µl des Überstands (Doppel- bis Dreifachbestimmung) auf die Platte aufgetragen.

Anschließend wurden 50 µl des in Probenpuffer verdünnten POD-markierten Antikörpers HP25,2m/2H10-POD (Connex, Martinsried) direkt in die Stuhlsuspension gegeben. Die Platten wurden 1 Stunde bei Raumtemperatur auf dem Schüttler (Stufe 4-5) inkubiert.

Nach viermaligen Waschen mit Waschpuffer (75 mM PBS, 0,25% (v/v) Tween®) wurde das Peroxidase-Substrat TMB (Einkomponentensubstrat von Neogen) zugegeben (100 µl/Vertiefung). Nach 10 Minuten wurde die Enzymreaktion durch Zugabe von 1 N Salzsäure (100 µl/Vertiefung) gestoppt. Die anschließende Messung der Farbintensität erfolgte bei 450 nm gegen die Referenzwellenlänge 630 nm.

Beispiel 1: Vergleich des Signal-/Hintergrundverhältnisses verschiedener Lösungen zur Probenaufbereitung

Tabelle 1 zeigt den Vergleich verschiedener Lösungen anhand von ausgewählten Proben, die sich in der Detektion als besonders schwierig erwiesen.

Fang-Antikörper	HP25,2m/2H10 (2,0 µg/ml)			
Detektions-Antikörper	HP25,2m/2H10-POD (200 ng/ml)			
Probenpuffer		r-biopharm Probenpuffer	Erfindungsgemäße Lösung	PBS + Magermilch- pulver (2% (w/v))
	Probe	OD	OD	OD
CX1002	G0	2.026	0.534	0.678
CX2028	G0	0.059	0.034	0.090
CXT0069-1	G0	0.079	0.021	0.032
CXT0071-1	G0	0.348	0.030	0.051
CXT0072-1	G0	0.079	0.036	0.052
CXT0073-1	G0	0.044	0.036	0.076
CXT0074-1	G0	0.125	0.028	0.058
CX1038	G4	0.100	0.040	0.074
CXT0053-1	G4	4.458	4.247	4.285
CXT0058-1	G4	0.221	0.146	0.192
CXT0077-1	G4	0.264	0.180	0.198
Summe G4		5.607	4.714	4.831
Summe G0		2.760	0.719	1.037
Ag-NWG in ng/ml		0.33	0.33	0.11
Hintergrund		0.102	0.08	0.035

r-biopharm-Lösung erhältlich von der Firma r-biopharm, Darmstadt

OD: Optische Dichte

NWG: Nachweisgrenze

Ergebnis: 75 mM PBS + 0,5% Mäuseserum + 1 mM EDTA + 0,05% (w/v) Proclin® 300 + 30 µg/ml Gentamicinsulfat + 0,1% (v/v) Chaps zeigt von den 3 untersuchten Puffern das beste Signal/Hintergrund-Verhältnis.

Beispiel 2: Einfluß verschiedener Chaps-Konzentrationen in der erfindungsgemäßen Lösung auf das Signal-/Hintergrundverhältnis und die Sensitivität des Tests

Fang-Antikörper	HP25,2m/2H10 1,5 µg/ml			
Detektions-Antikörper	HP25,2m/2H10- POD 0,2 µg/ml			
	0% Chaps	0,1% (v/v) Chaps	0,25% (v/v) Chaps	0,5% (v/v) Chaps
Antigennachweis [ng/ml]	0,3	0,3-1	0,3	0,1-0,3
Hintergrund HO delta OD	0,15	0,067	0,04	0,026
delta OD bei 9 ng/ml <60 kDa	0,759	0,89	0,787	1,267
Patientenproben				
CXT73 G0	0,12	0,03	0,04	0,06
CXT 54 G0	0,11	0,03	0,04	0,05
CX 60 G0	0,12	0,065	0,04	0,05
CXT 63 G0	0,07	0,05	0,045	0,05
CXT 62 G0	0,03	0,07	0,03	0,03
CXT 64 G4	0,51	0,94	0,9	0,5
CXT 58-3 G4	0,2	0,38	0,27	0,21

Ergebnis: Die Tabelle zeigt, daß die Zugabe von Chaps (0,1-0,25% (v/v)) ein positives G0/G4-Signalverhältnis erzeugt.

Patentansprüche

1. Lösung zur Aufbereitung einer Stuhlprobe für diagnostische Zwecke, enthaltend:
 - mindestens eine Puffersubstanz;
 - mindestens ein Detergenz und
 - mindestens ein Blockierungsreagenz.
2. Lösung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Puffersubstanz ausgewählt wird aus PBS, TBS, Glycinpuffer (0,1 M Glycin, 140 mM NaCl), HEPES ([4-(2-Hydroxyethyl)-piperazino]-ethansulfonsäure) und MOPS (3-Morpholino-1-propansulfonsäure).
3. Lösung nach einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Lösung einen pH in einem Bereich von 7,0 bis 8,0, vorzugsweise 7,2 bis 7,7, besonders bevorzugt 7,3 bis 7,5, aufweist.
4. Lösung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens ein Detergenz ein zwitterionisches Detergenz ist, vorzugsweise ausgewählt aus Chaps (3-[(3-Chloramidopropyl)-dimethylammonium]-1-propansulfonat) und Zwittergent® (N-Dodecyl-N,N-Dimethyl-3-ammonio-1-propansulfonat).
5. Lösung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass das Detergenz in einer Konzentration von 0,01 bis 1,5% (v/v), vorzugsweise in einem Bereich von 0,05 bis 0,3% (v/v), ganz besonders bevorzugt in einem Bereich von 0,1 bis 0,15% (v/v) vorliegt.
6. Lösung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass das Blockierungsreagenz ausgewählt wird aus Mäuseserum, Rinderserum, Humanserum, Kaninchenserum, Schweineserum, fötales Kälberserum, BSA, Magermilchpulver und Pepton.
7. Lösung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass das Blockierungsreagenz Mäuseserum ist.

8. Lösung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass das Blockierungsreagenz in einer Konzentration von 0,05 bis 5%, vorzugsweise in einem Bereich von 0,1 bis 1%, ganz besonders bevorzugt in einem Bereich von 0,4 bis 0,6% vorliegt.
9. Lösung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass die Lösung weiterhin ein Probenstabilisierungsmittel enthält.
10. Lösung nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass das Stabilisierungsmittel ausgewählt wird aus Antibiotika und Phenol.
11. Lösung nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass als Stabilisierungsmittel Gentamicinsulfat und/oder Proclin® 300 eingesetzt wird.
12. Lösung nach einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass die Lösung weiterhin einen Komplexbildner enthält, vorzugsweise ausgewählt aus EDTA und EGTA, besonders bevorzugt EDTA.
13. Lösung nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass der Komplexbildner in einer Konzentration von 1 mM vorliegt.
14. Testkit zum Analysieren einer Stuhlprobe, umfassend ein Behältnis enthaltend eine Lösung nach einem der Ansprüche 1 bis 13, sowie weitere Behältnisse mit Reagenzien zur Durchführung eines Immunoassays.
15. Verfahren zur Analyse einer Stuhlprobe für diagnostische Zwecke, umfassend die Schritte:
 - (a) Inkontaktbringen der Probe mit einer Lösung nach einem der Ansprüche 1 bis 13;
 - (b) Durchführen eines Immunoassays mit der nach Schritt (a) behandelten Probe, und
 - (c) Abnehmen eines Meßsignals, das im Rahmen des Immunoassays erhalten wurde.

16. Verfahren nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass der Immunoassay ein ELISA ist.
17. Verfahren nach Anspruch 15 oder 16, dadurch gekennzeichnet, dass die mit der Lösung behandelte Stuhlprobe auf einen Filterstreifen aufgebracht wird.
18. Verwendung einer Lösung nach einem der Ansprüche 1 bis 13 zur Aufbereitung einer Stuhlprobe für diagnostische Zwecke.